

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-98656

(43) 公開日 平成 8 年 (1996) 4 月 16 日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 J 3/34				
3/08				
A 6 1 K 38/00	ABF		A 6 1 K 37/ 18	ABF

審査請求 未請求 請求項の数 5 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平6-261711

(22) 出願日 平成 6 年 (1994) 9 月 30 日

(71) 出願人 000006699

雪印乳業株式会社

北海道札幌市東区苗穂町 6 丁目 1 番 1 号

(72) 発明者 宿野部 幸孝

埼玉県川越市南古谷上 6083-8 B-2-205

(72) 発明者 江藤 正之

埼玉県川越市今福 243-1 A-301

(72) 発明者 池永 顕史

埼玉県川越市新宿町 5-11-3

(72) 発明者 中村 哲郎

埼玉県入間市下藤沢 580-5

(54) 【発明の名称】 ホエータンパク質ペプチド組成物及びその製造法

(57) 【要約】

【目的】 風味が良好なホエータンパク質ペプチド組成物を提供する。

【構成】 タンパク質加水分解酵素でホエータンパク質を分解したホエータンパク質ペプチドと乳糖を混合するか、ホエータンパク質と乳糖及び／または脱塩ホエータンパク質を混合した後、タンパク質加水分解酵素で分解して、風味が良好なホエータンパク質ペプチド組成物を得る。

【効果】 このホエータンパク質ペプチド組成物は、風味が良好であり、医薬品や飲食品の素材として有用である。特に、低アレルギー化するために高度に加水分解するホエータンパク質ペプチドの素材として、アレルギーを予防する必要があるミルクやスポーツ飲料などの飲食品あるいは経腸栄養剤などの医薬品などへの利用に最適である。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 主成分としてホエータンパク質ペプチド1重量部と乳糖1～20重量部を含有することを特徴とするホエータンパク質ペプチド組成物。

【請求項2】 ホエータンパク質ペプチドが、次の性質を有するものである請求項1記載のホエータンパク質ペプチド組成物。

(1) 平均分子量：1,000～3,000

(2) 平均鎖長：3～8

(3) 遊離アミノ酸含量：20重量%以下

(4) 抗原性： $\beta$ -ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下

【請求項3】 ホエータンパク質濃縮物1重量部と乳糖1.25～27重量部を混合した基質にタンパク質加水分解酵素を作用させることを特徴とする、主成分としてホエータンパク質ペプチド1重量部と乳糖1～20重量部を含有するホエータンパク質ペプチド組成物の製造法。

【請求項4】 ホエータンパク質濃縮物1重量部と脱塩ホエータンパク質1.4～30重量部を混合した基質にタンパク質加水分解酵素を作用させることを特徴とする、主成分としてホエータンパク質ペプチド1重量部と乳糖1～20重量部を含有するホエータンパク質ペプチド組成物の製造法。

【請求項5】 ホエータンパク質濃縮物1重量部、脱塩ホエータンパク質1.4～30重量部及び乳糖1～20重量部を混合した基質にタンパク質加水分解酵素を作用させることを特徴とする、主成分としてホエータンパク質ペプチド1重量部と乳糖1～20重量部を含有するホエータンパク質ペプチド組成物の製造法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物に関する。また、本発明は、ホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物を製造する方法に関する。本発明のホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物は、風味が良好なので医薬品や飲食品の素材として有用である。特に、低アレルギー化のために高度に加水分解されたホエータンパク質ペプチドの風味を良好なものとするので、アレルギーを予防する必要があるミルクやスポーツ飲料などの飲食品あるいは経腸栄養剤などの医薬品の素材として有用である。

## 【0002】

【従来の技術】 食物アレルギーは、食物中に含まれている種々の物質により惹起される異常反応であり、広い意味において食物に対する生体の拒否反応といえる。そして、牛乳や乳製品中に含まれる様々な物質が食物アレルギーに関与しているとされている。特に、牛乳のホエータンパク質中に含まれている $\beta$ -ラクトグロ

2

ブリンは、人乳に含まれているタンパク質の成分と異なり、アレルギー性が高いといわれている。

【0003】 そこで、このアレルギー性を低下させるために、牛乳のホエータンパク質をタンパク質加水分解酵素で加水分解することが行われている。例えば、ホエータンパク質などの乳タンパク質をタンパク質加水分解酵素で加水分解した後、pH6～8で80～100℃、3～10分間加熱処理し、40～60℃に冷却し、さらに、タンパク質加水分解酵素で加水分解した後、加熱して酵素を失活させることによりアレルギーを実質的に含まない乳タンパク質加水分解物を製造する方法〔特開平2-2319号公報〕、カゼインやホエータンパク質などの乳タンパク質をタンパク質加水分解酵素で加水分解することにより、ペプチドの分子量が1,000以下で抗原性を示さず、かつ原料タンパク質中に含まれる芳香族アミノ酸の90%以上を遊離アミノ酸とし、この加水分解物からペプチド部分をゲル濾過法で回収することによる低分子量ペプチドを製造する方法〔特開平2-138991号公報〕などが知られている。

【0004】 このように、牛乳のホエータンパク質のアレルギー性を低減化させる目的を達成するためには、タンパク質加水分解酵素を用いてホエータンパク質を高度に加水分解する必要がある。しかし、ホエータンパク質を高度に加水分解すると苦味ペプチドや遊離アミノ酸が生成し、ホエータンパク質の加水分解物は苦味やアミノ酸味などを呈し、風味が悪化するという問題がある。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは、上述の問題点に鑑み、ホエータンパク質をタンパク質加水分解酵素で分解して製造するホエータンパク質ペプチドの風味を改善する目的で鋭意研究を行っていたところ、ホエータンパク質ペプチドを製造する際に用いるホエータンパク質濃縮物(WPC)に乳糖を混合した後、タンパク質加水分解酵素を用いて加水分解することにより、あるいはホエータンパク質濃縮物(WPC)に脱塩ホエータンパク質を混合した後、タンパク質加水分解酵素を用いて加水分解することにより、風味が良好なホエータンパク質ペプチドを製造することができることを見出し、本発明を完成するに至った。したがって、本発明は、ホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物を提供することを課題とする。また、本発明は、ホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物の製造法を提供することを課題とする。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明では、ホエータンパク質ペプチドを乳糖と共存させることによりホエータンパク質ペプチドの苦味をマスキングする。このホエータンパク質ペプチドを乳糖と共存させる方法としては、ホエータンパク質をタンパク質加水分解酵素で分解して

3

得られたホエータンパク質ペプチドを乳糖と混合する方法、ホエータンパク質と乳糖を混合してタンパク質加水分解酵素で分解する方法、ホエータンパク質と乳糖を含有する脱塩ホエータンパク質を混合してタンパク質加水分解酵素で分解する方法などを例示することができる。

【0007】ホエータンパク質ペプチドの原料としては、通常のホエータンパク質ペプチドを製造する際に用いられるホエータンパク質濃縮物(WPC)やホエータンパク質単離物(WPI)などを用いることができる。また、ホエータンパク質ペプチドと共存させる乳糖は、乳糖や乳糖を含む乳製品などを用いればよい。

【0008】タンパク質加水分解酵素を作用させる条件は、通常のホエータンパク質ペプチドを製造する際の条件を適宜選択して行えばよい。また、低アレルギー化ホエータンパク質ペプチドを得るためには、通常の低アレルギー化ホエータンパク質ペプチドを製造する際に用いられる複数のタンパク質加水分解酵素を用いる方法や二段階の酵素分解を行う方法、さらには予め基質を加熱変性させて酵素分解を行う方法などを適宜選択して行えばよい。

【0009】そして、必要に応じて不純物を除去し、さらに濃縮及び乾燥して、ホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物を得ることができる。このホエータンパク質ペプチド組成物は、良好な風味を有する。

【0010】なお、本発明のホエータンパク質ペプチドの平均分子量、平均鎖長、遊離アミノ酸含量及び抗原性は、以下のようにして測定した。

#### 【0011】平均分子量の測定

TSK gel G3000PW<sub>XL</sub>、長さ 300×直径 7.8mm (東ソー株式会社製) を装着したHPLCクロマトグラフィーを用い、0.1%トリフルオロ酢酸を含む55%アセトニトリルを溶媒とし、210nmの吸光度を測定してクロマトグラムを作成した。また、同様に分子量の判明している標準タンパク質及びペプチドを溶出し、そのクロマトグラムと本発明物質のクロマトグラムを比較した。

#### 【0012】平均鎖長の測定

乾燥重量で0.1gのタンパク質を25ml容メスフラスコに採取し、蒸留水でメスアップする。そして、この溶液 1.0mlに0.1Mホウ酸緩衝液(pH 9.2) 6.0mlを加え、恒温槽で50℃に加温した後、0.1%TNBS試薬 2.0ml及び0.03M亜硫酸ナトリウム溶液 1.0mlを加えて25分間静置し、その後、氷水中で10秒間振り混ぜながら急冷し、さらに室温で20分間静置して発色させた後、425nmでブランクに対して吸光度を測定し、加水分解前の吸光度とする。一方、メスアップ後同一試料 1.0mlを加水分解用試験管に採取し、蒸留水 4.0ml及び12N塩酸 5.0mlを加えて減圧後、脱気封管し、ブロックヒーターで110℃、24時間加水分解する。そして、加水分解物を200ml容ナスフラスコに移して、ロータリーエバポレーターで塩酸を除去

4

後、蒸留水10mlを加え、その中 1.0mlを上記と同様の方法で発色させてその吸光度を測定し、加水分解後の吸光度とした。そして、「平均鎖長=(加水分解後の吸光度)/(加水分解前の吸光度)」の計算式により平均鎖長を求める。

#### 【0013】遊離アミノ酸の測定

TNBS (トリニトロベンゼンスルホン酸) によるアミノ基の定量法に従って行った。

#### 【0014】β-ラクトグロブリンの抗原性試験

酵素免疫測定法 (Enzyme-Linked immunosorbent assay: ELISA) の抑制試験 (川瀬興三ら、東邦医学会誌、第35巻、第506頁、1989年) に従い、β-ラクトグロブリンを対照として行った。

【0015】次に、実施例を示して本発明を詳細に説明する。

【実施例1】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 50kgを水 950kgに溶解した基質にパバイン7,500,000Uを添加し、50℃で4時間反応させた後、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、ホエータンパク質ペプチド溶液を得た。そして、このホエータンパク質ペプチド溶液に乳糖 150kgを添加して溶解した後、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 180kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、このホエータンパク質ペプチド組成物の風味は良好であった。

#### 【0016】

【実施例2】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 50kgと乳糖 150kgを水 950kgに溶解した基質にパバイン7,500,000Uを添加し、50℃で4時間反応させた後、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 180kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、このホエータンパク質ペプチド組成物の風味は良好であった。

#### 【0017】

【実施例3】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 25kgと脱塩ホエータンパク質 187.5kgを水 937.5kgに溶解した基質にパバイン7,500,000Uを添加し、50℃で4時間反応させた後、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 188kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、このホエータンパク質ペプチド組成物の風味は良好であった。

#### 【0018】

【実施例4】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 50kgを水 950kgに溶解した基質にトリプシン7,500,000Uを添加し、50℃で4時間反応させた後、90℃で10分間の加熱処理に

5

より酵素を失活させ、ホエータンパク質ペプチド溶液を得た。そして、このホエータンパク質ペプチド溶液に乳糖 150kgを添加して溶解した後、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 180kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、このホエータンパク質ペプチド組成物の風味は良好であった。

【0019】

【実施例5】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 50kgと乳糖 150kgを水 950kgに溶解した基質にトリブシン7,500,000Uを添加し、50℃で4時間反応させた後、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 180kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、このホエータンパク質ペプチド組成物の風味は良好であった。

【0020】

【実施例6】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 25kgと脱塩ホエータンパク質 187.5kgを水 937.5kgに溶解した基質にトリブシン7,500,000Uを添加し、50℃で4時間反応させた後、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 188kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、このホエータンパク質ペプチド組成物の風味は良好であった。

【0021】

【実施例7】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 50kgを水 950kgに溶解した基質にトリブシン3,750,000Uを添加し、50℃で3時間反応させた後、パバイン3,750,000Uを添加し、70℃で2時間反応させた。そして、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、ホエータンパク質ペプチド溶液を得た。このホエータンパク質ペプチド溶液に乳糖 150kgを添加して溶解した後、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 180kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、ホエータンパク質ペプチドの平均分子量は 1,500、平均鎖長は 6.4、遊離アミノ酸含量は1重量%未満であった。さらに、抗原性はβ-ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下であった。

【0022】

【実施例8】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 50kgと乳糖 150kgを水 950kgに溶解した基質にトリブシン3,750,000Uを添加し、50℃で3時間反応させた後、パバイン3,750,000Uを添加し、70℃で2時間反応させた。そして、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペ

6

チド組成物 180kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、ホエータンパク質ペプチドの平均分子量は 1,300、平均鎖長は 7.8、遊離アミノ酸含量は1重量%未満であった。さらに、抗原性はβ-ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下であった。

【0023】

【実施例9】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 25kgと脱塩ホエータンパク質 187.5kgを水 937.5kgに溶解した基質にトリブシン3,750,000Uを添加し、50℃で3時間反応させた後、パバイン3,750,000Uを添加し、70℃で2時間反応させた。そして、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 188kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、ホエータンパク質ペプチドの平均分子量は 1,200、平均鎖長は 7.2、遊離アミノ酸含量は1重量%未満であった。さらに、抗原性はβ-ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下であった。

【0024】

【試験例1】試料として、実施例7~9で得られた乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物と、対照として、実施例7の乳糖を添加する前のホエータンパク質ペプチドを濃縮及び乾燥して得られたホエータンパク質ペプチド組成物の苦味について官能評価を行った。

【0025】官能評価は、それぞれのホエータンパク質ペプチド組成物について5%濃度の溶液を調製して行った。また、苦味の標準物質として塩酸キニーネを用い、塩酸キニーネを溶解した溶液中の塩酸キニーネ濃度が0.004%のものを評価1とし、0.01%のものを評価2とした。また、苦味の評価が評価1と評価2の間であった場合、評価1に近ければ1<sup>+</sup>と表示し、評価2に近ければ2<sup>-</sup>と表示した。

【0026】その結果、実施例7で得られたホエータンパク質ペプチド組成物の苦味の評価は1、実施例8で得られたホエータンパク質ペプチド組成物の苦味の評価は1、実施例9で得られたホエータンパク質ペプチド組成物の苦味の評価は1<sup>-</sup>、実施例7の乳糖を添加する前のホエータンパク質ペプチドを濃縮及び乾燥して得られたホエータンパク質ペプチド組成物の苦味の評価は2であった。

【0027】

【実施例10】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 30kg、脱塩ホエータンパク質 150kg及び乳糖35kgを水 785kgに溶解した基質にトリブシン3,750,000Uを添加し、50℃で3時間反応させた後、パバイン3,750,000Uを添加し、70℃で2時間反応させた。そして、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖

7

を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 195kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、ホエータンパク質ペプチドの平均分子量は1,350、平均鎖長は5.8、遊離アミノ酸含量は1重量%未満であった。さらに、抗原性は $\beta$ -ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下であった。

## 【0028】

【実施例11】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 45kg、脱塩ホエータンパク質50kg及び乳糖 120kgを水 785kgに溶解した基質にトリブシン3,750,000Uを添加し、50℃で3時間反応させた後、パパイン3,750,000Uを添加し、70℃で2時間反応させた。そして、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 195kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、ホエータンパク質ペプチドの平均分子量は1,400、平均鎖長は6.2、遊離アミノ酸含量は1重量%未満であった。さらに、抗原性は $\beta$ -ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下であった。

## 【0029】

8

【実施例12】ホエータンパク質濃縮物(WPC) 38kg、脱塩ホエータンパク質 100kg及び乳糖77kgを水 785kgに溶解した基質にトリブシン3,750,000Uを添加し、50℃で3時間反応させた後、パパイン3,750,000Uを添加し、70℃で2時間反応させた。そして、90℃で10分間の加熱処理により酵素を失活させ、さらに、濃縮及び乾燥して乳糖を含有するホエータンパク質ペプチド組成物 195kgを得た。このホエータンパク質ペプチド組成物には、ホエータンパク質ペプチド21重量%と乳糖71重量%が含まれていた。また、ホエータンパク質ペプチドの平均分子量は1,500、平均鎖長は6.7、遊離アミノ酸含量は1重量%未満であった。さらに、抗原性は $\beta$ -ラクトグロブリンの抗原性の1/1,000以下であった。

## 【0030】

【発明の効果】本発明のホエータンパク質ペプチドと乳糖を主成分とするホエータンパク質ペプチド組成物は、風味が良好であり、医薬品や飲食品の素材として有用である。特に、低アレルギー化するために高度に加水分解されたホエータンパク質ペプチドとして、アレルギーを予防する必要があるミルクやスポーツ飲料などの飲食品あるいは経腸栄養剤などの医薬品の素材として最適である。